DOI:10.11931/guihaia.gxzw202211037

不同品种文冠果种子萌发对低温储藏的响应

吴琴霞[1]，胡宇辰[1]，陈 颖[1*]，程 乐[1]，鞠定顺[1]，李守科[2]，曹福亮[1]
（1.南京林业大学 生物与环境学院，南方现代林业协同创新中心，江苏 南京 210037；
2. 山东沃奇农业开发有限公司，山东 潍坊，262100）

摘 要：为研究不同文冠果品种种子的休眠与萌发机理，该文选择4个品种 (‘普通’(PT)‘奇红’(QH)、‘沃丰’(WF)、‘沃石’(WS))文冠果种子，分别在-20 ℃下进行不同时间段（30、60、90、120、150 d）的储藏处理，测定各阶段文冠果种子的发芽指标，并对储藏前、储藏后、萌发7天间的种子内含物、激素水平进行研究。结果表明：（1）-20 ℃储藏能够显著提高小粒种子（PT、QH）的发芽质量，处理60 d的效果最好，其发芽率分别达 48.3%、58.3%，但大粒种子WF、WS品种的效果低于前两者。（2）-20 ℃储藏60 d及种子湿沙萌发7 d内，4个品种油脂含量、种壳厚度均出现显著下降，在3~7 d下降幅度大（WS除外）。而种仁含水量在萌发1~3 d内快速增加尔后缓慢增加到第7 天的峰值，种仁淀粉、可溶性糖等指标都在发芽3~4 d时显著积累。(3) 低温冷藏可提高文冠果小粒品种种子的GA/ABA和tHor/ABA (tHor =IAA+GA+ZR+iPA)的比值，进而促进油脂降解、种壳变薄解除种子的休眠。总之，文冠果种子大、种壳厚、硬度大、生理后熟是导致其休眠的主要原因，属综合休眠类型。低温冷藏可破除种子休眠，提高其种子的发芽率，小粒品种效果好于大粒品种。大粒品种如‘沃石’可通过延长低温冷藏时间(150 d)提高种子发芽率（38.7%）。低温冷藏+湿沙萌发是一种快速和简便的促进文冠果种子萌发的方法。该研究为文冠果优良品种推广和种子解休眠机制研究提供参考。

关键词：文冠果品种，冷藏处理，种子萌发，储藏物质，激素，解休眠机制

Responses of seed germination to low temperature storage in different cultivars of *Xanthoceras sorbifolium*

WU Qinxia[1]，HU Yuchen[1]，CHEN Ying[1*]，CHENG Le[1]，JU Dingshun[1], Li Shouke[2]， CAO Fuliang[1]
(1. *College of Biology and Environment, Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China, Nanjing Forestry University*, Nanjing 210037, China; 2. *Woqi Agricultural Development Co. , Ltd.*, Weifang 262100, Shandong, China)

Abstract: To study the seed dormancy and germination mechanism of *Xanthoceras sorbifolium*, the seeds of four cultivars (‘Putong’(PT),‘Qihong’(QH), ‘Wofeng’(WF) and‘Woshi’(WS)) were stored at -20 ℃ for different periods (30, 60, 90, 120, 150 d). The seed germination indexes were determined in each treatment, and the changes of reserve substance and hormone content were also analyzed in three stages including before storage, after storage, and 7 days germination. The results were as follows: (1) Cold storage could significantly promote the germination rate (Gr) and germination potential of small seeds (PT, QH). The best treatment was cold storage for 60 days, and the Gr was to 48.3 % and 58.3%, respectively. The effect of cold storage on large seeds (WF and WS) was lower than that of small seeds. (2) The kernel oil content, seed shell thickness (SST) in four cultivar seeds all decreased significantly during periods of cold storage and germination, especially in the 3-7 days of germination, the oil content and SST (except

---

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2017YFD0601301)；院士基金与山东潍坊沃奇科技合作项目；江苏省高校优势学科建设工程资助项目（PAPD）。

第一作者：吴琴霞(1997-) 女，硕士研究生，主要从事植物生理学的研究，(E-mail) 173424240@qq.com。
***通信作者**：陈颖，博士，教授，主要从事植物资源、逆境生理等方面的研究，(E-mail) chynjfu@163.com。

WS cultivar) decreased notably. However, water content in kernels increased rapidly within 1-3 days of germination and then slowly increased to the peak value at the 7th day. The contents of starch and soluble sugar in kernels increased significantly at the 3th or 4th day of germination. (3) Cold storage increased GA/ABA and tHor/ABA ratios in small seeds (PT, QH), promoted oil degradation, made seed shell thinning and break seed dormancy. In conclusion, the main factors leading to dormancy in *Xanthoceras sorbifolium* seeds are large in size, higher shell thickness and hardness, physiological post-ripening, and belongs to comprehensive dormancy type. Cold storage at -20 ℃ for 60 d could improve the germination rate of PT, QH and WF seeds, reduces dormancy degree, while the cold storage time of WS seeds needs prolonging to 150 days. The method using -20 ℃ storage with wet sand germination is a rapid and simple method to promote *Xanthoceras sorbifolium* seeds germination. This study provides a reference for the promotion of superior varieties and the research on the seed breaking dormancy mechanism in *Xanthoceras sorbifolium*.

Key words：*Xanthoceras sorbifolium* cultivars， cold storage， seed germination， reserve substance， hormone，
breaking dormancy mechanism

文冠果（*Xanthoceras sorbifolium* Bunge）属无患子科文冠果属，落叶小乔木，主要分布在我国北方的内蒙古、甘肃、山东等地（Zhu et al., 2022）。其种子可食用，种仁含油率达55~65%，又因其含有神经酸（文冠果壳苷），具有降血压、抗氧化等保健功能，可作为生物质油、食用油及保健品等的原料（Yu et al., 2017; Wang et al., 2019），是我国北方最具发展前景的木本油料树种之一。

种子育苗是决定育种效率的重要因素之一（Wang et al., 2022）。目前，文冠果种子自然萌发率很低（6%~20%），其原因可能是由于其种子内存在萌发抑制物、种皮有蜡层、硬度大、较厚、种子采集时未完全成熟等导致的种子休眠所致（张茜等，2014）。采用沙藏法、化学药剂浸种法、机械处理法等都可以提高文冠果种子的发芽率（张茜等，2014；刘春香等，2020；宋美华等，2021），但对文冠果种子的解休眠机制、休眠生理的研究较少。

低温冷藏处理可以有效打破种子休眠、提高种子的萌发率（Scepanovic et al., 2022）。不同种子低温冷藏的方法不同，如桃砧木种子在4 ℃冷藏60 d或30 d、枫香种子在-70 ℃储藏、文冠果种子在-20 ℃低温储藏15 d，这些方法都显著地提高了种子的发芽率（裴云霞等，2020；刘春香等，2020；徐慧敏等, 2022）。研究表明，低温能解除种子休眠的原因，主要是低温层积或低温储藏过程中促进了种子萌发抑制物的降解，完成了生理后熟所致（徐慧敏等，2022）。但低温储藏过程中，种子种皮和种子内含物的变化与解除休眠的关系，低温如何驱动种子休眠的解除、种子如何感应温度变化的机制，目前尚不清楚（Graeber et al.，2012）。

为深入探讨文冠果种子的休眠和解休眠机制，提高种子发芽率，培育优良苗木，本研究以4个优良文冠果品种种子为研究材料，通过冷藏处理和发芽过程中种子内含物的变化分析，拟探讨以下问题：（1）种子大小与种子休眠的关系；（2）低温储藏对文冠果种子萌发的影响；（3）低温储藏对文冠果种子内含物、激素代谢变化的影响及

与解休眠的关系。本研究将为揭示文冠果种子休眠的成因及解休眠的机制提供理论基础，也为文冠果良种繁育提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 供试材料

材料来自于山东沃奇农业开发有限公司的文冠果种质资源圃，本研究选取‘普通’（PT）、‘奇红’（QH）、‘沃丰’（WF）和‘沃石’（WS）4个品种的文冠果种子作为试验材料。其中‘普通’品种是种质资源圃的原始品种。‘奇红’品种（观赏型）花瓣为粉红、紫红色，即可用于观赏又可用油用品种。‘沃丰’ (丰产型) 属多花多果品种，花瓣上部白色，基部变为紫红色，结实量大。‘沃石’（油用型）花瓣上部白色，基部黄色，顶侧芽呈串果状，结实能力强，抗干旱、适应能力强。

2021年12月，分别选取上述4个品种中颗粒饱满、无损害、无虫害的种子进行-20℃储藏处理（前期已对普通文冠果种子进行了沙藏、-20 ℃储藏、PEG、ABT、热水等多种方法处理，发现-20℃储藏的效果最好）。将种子随机放入扎孔的自封袋中，然后放置在-20 ℃冰箱中进行30、60、90、120、150 d 5个时间段的冷藏处理，其中每个品种每时间段300粒（每小袋100粒，重复3次），以室温25 ℃左右储藏60 d为对照。

1.2 种子发芽情况统计

将高温灭菌过的沙土加水混合，放入发芽盒中，当手握成团放手散开时，将完成冷藏处理的种子从-20℃冰箱中取出，分别将冷藏和室温储藏的种子均匀混入湿沙中，上层再用 3 cm 厚的湿沙覆盖（每盒放置 100 粒），置 25 ℃左右的室温环境下进行萌发。试验过程中定期翻动种子，保持萌发种子的透气性，定期喷水以保持湿度一致。种子开始发芽后，每天观察并统计其发芽数，直至 30 d 发芽结束。

发芽率（%）=发芽种子总数/供试种子数×100%（以 30 d 发芽统计）；发芽势（%）=发芽达到高峰期（第 15 天）种子发芽数/供试种子数×100%；发芽指数（Gi）= $\sum Gi/Dt$，式中：Gi 为不同时间的发芽数；Dt 为发芽时间（本研究计算前 30 d）。将发芽的种子移栽到盛有泥炭土∶珍珠岩∶蛭石（2∶1∶1）基质的无纺布袋培育 1 个月，统计各品种冷藏处理的幼苗成活率，观察生长情况。

1.3 种子性状指标及生理指标测定

在进行种子发芽的同时，对处理60 d的种子，每个品种多设置3个重复，300粒种子进行同上述同样处理和发芽试验，然后定期取样，用于油脂、激素等内含物各指标的测定。将冷藏和室藏60 d的种子分为6个时间段，储藏前期（Ⅰ）、储藏结束期（湿沙萌发0 d）（Ⅱ）、湿沙萌发第1 天（Ⅲ）、湿沙萌发第3 天（Ⅳ）、湿沙萌发第4 天（Ⅴ）、湿沙萌发第7 天（种子萌动期）（Ⅵ），分别取样进行指标测定。包括种壳厚度、种子厚度（游标卡尺测定）、单粒重等种子性状指标，及含水量、油脂、可溶

性糖、淀粉、可溶性蛋白、5种激素（IAA、GA、ZR、iPA、ABA）含量等生理指标。其中单粒重只测定储藏前期（I）, 5种激素只测定I、II、VI期。

含水量采用烘干法：将文冠果种子定期从湿沙中取出，洗净沙子用纸巾擦去表面的水分，再用钳子将种子夹开，取出种仁称取鲜重（M1），放入60 ℃烘箱中烘干至恒重称取干重（M2）。种仁含水量（%）=（$M1$-$M2$）/$M1$×100。剥出的种壳用游标卡尺测定其厚度，每个处理重复50次，取平均值。

可溶性糖与淀粉（蒽酮法）、可溶性蛋白（考马斯亮蓝法），油脂（索氏提取法）含量的测定均参照王三根法（2017）。植物激素含量测定采用酶联免疫法（ELISA，吴颂如等，1988）。其中植物激素采用烘干前的种子（鲜种子）、油脂、可溶性糖、淀粉、可溶性蛋白均采用烘干后的种子测定，以百分含量计算。以上指标每个品种每个时间段测定重复3次。

1.4 数据统计与分析

数据以平均±标准差(SD)表示。所有数据均采用 SPSS 23.0 统计软件进行单因素方差分析(ANOVA)、duncan's 多重检验，采用 Prism 和 R 软件进行绘图。

2 结果与分析

2.1 文冠果品种种子表型比较

在储藏前对4个品种的种子表型进行了测定。从图 1中可以看出，WF和WS品种属于大粒种子，种子厚度为1.19、1.21 cm；单粒质量为1.22、1.36 g（$P < 0.05$），都显著高于PT和QH品种（种子厚度为1.09、1.08 cm；单粒重在0.95、0.99 g, 属于小粒种子）。

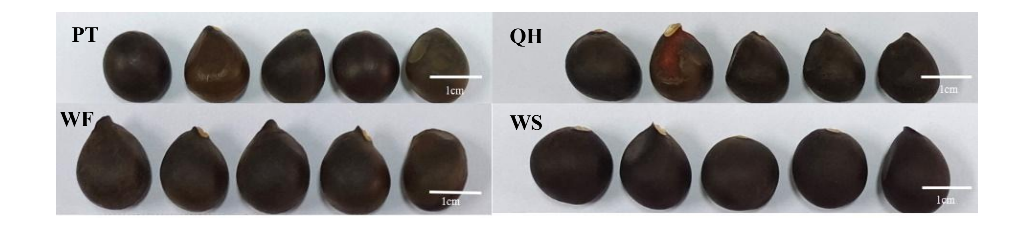


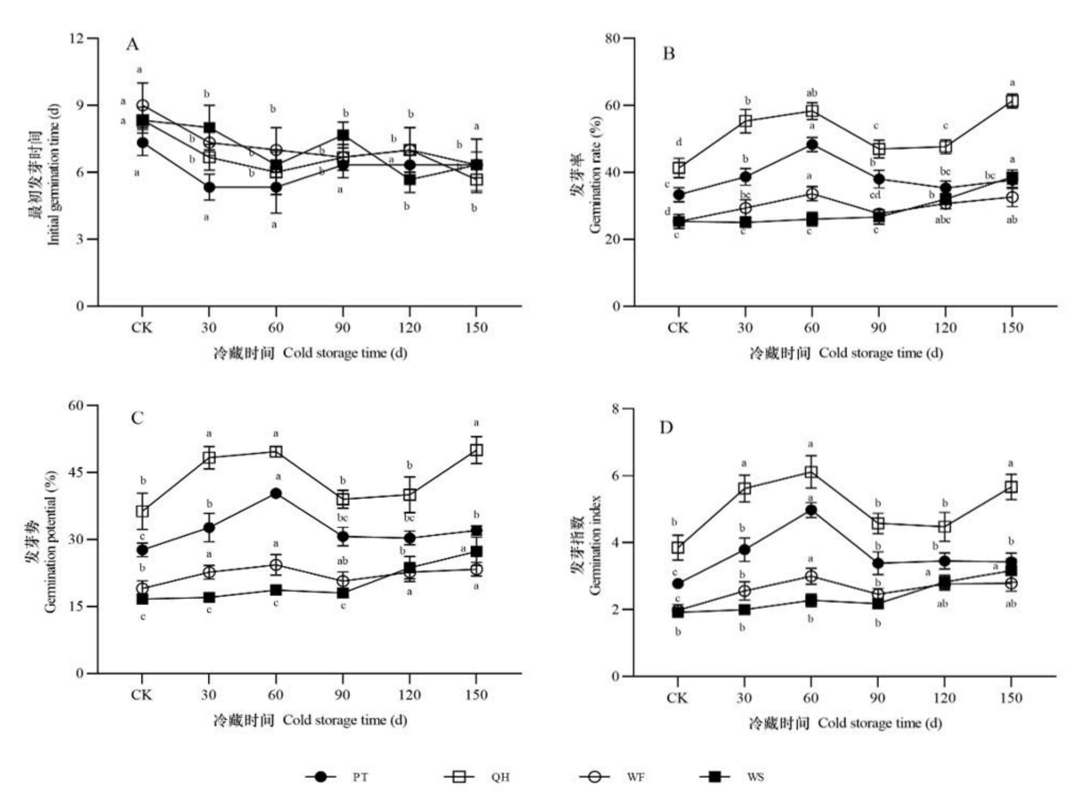
图1 4 个品种文冠果种子形态比较

Fig. 1 Comparison of seed morphology in four *Xanthoceras sorbifolium* cultivars

2.2 冷藏处理时间对文冠果种子发芽特性的影响

把经过-20 ℃冷藏处理30、60、90、120、150 d和室藏60 d (对照，CK)后的4个文冠果品种种子在室温下进行湿沙埋藏发芽，各发芽指标变化情况见图 2。由图2：A可知，室温储藏的种子，4个品种的平均初始发芽天数分别为7.3、8.3、9.0、8.3 d，经5个时间段的低温储藏后，4个品种的发芽时间都有所提前，PT品种在60 d的初始发芽时间最短为5.3 d，比对照提前了2 d。QH品种在冻藏60 d和150 d时的初始发芽时间分别为6.0、5.6 d，比对照提早了2.3、2.7 d；WF品种在冷藏150 d的初始发芽时间最短为6.3 d；WS品种在冷藏120 d时发芽时间最短为5.7 d。总体来看，低温冷藏60~150 d为适宜储藏时间，4个品种初始发芽时间大约可提前2 d。

从图：2 B-D可以看出，室温储藏后，大粒品种WF和WS种子的发芽率均为25.3%，小粒种子PT和QH的发芽率分别为33.3%和41.3%，发芽势和发芽势也是前两者低，后两者高（$P < 0.05$）。低温冷藏处理促进了种子的萌发，3个指标仍然是小种子高于大粒种子的，但变化趋势有所不同。在冷藏0~60 d，PT、QH、WF 3个品种的3个指标的变化都呈上升趋势，在60 d达到高点，与各室温储藏的之间都存在显著性差异（$P < 0.05$），冷藏60 d后这些指标都开始出现显著下降，到90~150 d之间，PT和WF品种3个指标的变化逐渐趋于平稳（三个时间段之间没有显著差异）；而QH品种在150 d时3个指标又回升至60 d的水平。WS品种在冷藏0~120 d之间，3个指标与对照相比变化不显著（$P > 0.05$），120 d后出现上升，到150 d时，3个指标数值显著高于对照（$P < 0.05$）。3个指标由高到底的顺序都是QH > PT > WF > WS (冷藏150 d时WS > WF)。PT、QH和WF 3个品种都以冷藏处理60 d时的最高，发芽率最高的QH为58.3%，3个品种的发芽率分别比各自室温储藏分别提高了45.3%、41.1%和32.9%；发芽势分别提高了45.8%、36.7%和28.1%；发芽指数分别提高了78.8%、58.7%和51.0%。WS品种在冷藏150 d时的发芽率、发芽势、发芽指数分别比为室温储藏提高了52.7%、64.0%和66.0%（图2: B，C，D）。发芽的种子移栽培养一个月后，发现WS品种苗成活率最高，幼苗较健壮。

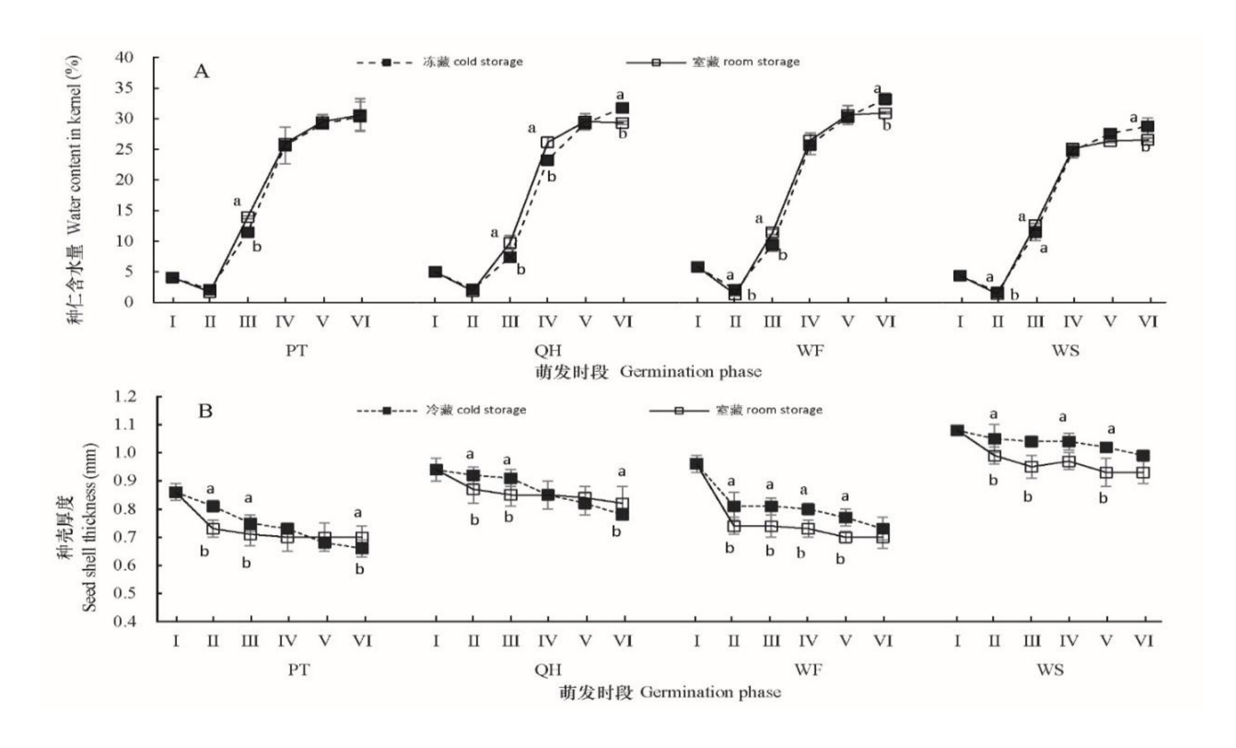


不同小写字母表示每品种种子各时段指标间的差异显著（$P < 0.05$）。下同。
Different small letters indicate significant difference at 0.05 level between germination phases of per cultivars. The same below.

图 2 不同冷藏处理时间对 4 个文冠果种子品种种子发芽指标的影响
Fig. 2 Effects of cold storage time on seed germination indexes of four *Xanthoceras sorbifolium* cultivars

2.3 冷藏处理下文冠果种子种壳厚度及内含物含量的动态变化

低温冷藏和室温储藏对4个品种的文冠果种子种壳厚度、含水量及种子内含物的影响见图3~图5。从图3：A中可以看出，储藏前4个品种种仁的含水量在4.1%~5.8%之间，在冷藏60 d结束后4个品种仁含水量都降低到1.7%~2.1%，而室藏的种仁含水量比冷藏下降的更多，在1.3%~1.9%之间，QH和PT品种的含水量高于WF和WS品种（$P< 0.05$）。将冷藏和室藏60 d后的种子直接放入湿沙中进行萌发，种仁含水量呈S型的变化趋势，即0~3 d为快速(直线)上升期，3~4 d曲线出现拐点，为缓慢期，4~7 d平缓期。冷藏和室藏的含水量差异主要出现在种子萌发的第1天和第7天（胚根开始萌出时）。在第1天时室温下的种子含水量都显著高于冷藏处理的，4个品种分别比各自冷藏处理的提高了21.3%、32.6%、21.9%、10.2%（$P < 0.05$，WS不显著），说明萌发初期室藏的种子吸水比冷藏的快。在第3 天时QH品种冷藏的含水量仍低于室藏的，但其他3个品种的含水量已经接近于室温下的，到第7天时，除PT品种外，其他3个品种的含水量已经显著高于室藏的，分别高8.3%、7.4%和8.5%。



Ⅰ. 储藏前；Ⅱ. 冷藏或室藏处理完毕(发芽0 d)；Ⅲ. 冷藏或室藏后湿沙发芽第1 天；Ⅳ. 冷藏或室藏后湿沙发芽第3 天；Ⅴ. 冷藏或室藏后湿沙发芽第4 天；Ⅵ. 冷藏或室藏后湿沙发芽第7 天。不同小写字母表示同一品种冷藏和室藏各对应时间段间的差异显著（P<0.05）。 下同。

Ⅰ. Before storage; Ⅱ. After cold or stored at room temperature (or germinate for 0 days); Ⅲ. Wet sand germination for one day; Ⅳ. Wet sand germinates for three days; Ⅴ. Wet sand germinates for four days; Ⅵ. Wet sand germinates for seven days. Different small letters indicate significant difference at 0.05 level between clod and room storage of per phases. The same below.

图3 冷藏处理对4个文冠果种子发芽过程中种仁含水量、种壳厚度的影响

Fig. 3 Effects of cold storage on water content in kernel, seed shell thickness in four *Xanthoceras sorbifolium* cultivar seeds during storage and germination

从种壳厚度来看，储藏前WS品种的厚度最大，其次是WF，QH第三，PT种皮最薄。储藏60 d后(II期)，2种处理的种皮都有所变薄，如低温冷藏处理的4个品种种壳厚度分别比收获时下降了6.0%、3.0%、16.0%、4.0%，但室藏的较低温冷藏的下降更多。种子萌发期间，室藏下的种子种壳厚度除第7 天出现稍稍下降外（不显著），其他时间

都没有明显地变化，而低温冷藏的种子在萌发期间种壳厚度逐渐下降， 在萌发第7 天时，4个品种比萌发0 d时分别下降了17.0%、14.0%、10.0%、5.0%（$P<0.05$）。而且低温冷藏的种子在萌发初期（1~3 d）各品种的种壳厚度都比各自室藏的高，但到7 天时，PT和QH品种的种壳厚度开始低于室藏的，分别降低了了5.7%和4.9%，而WF和WS仍比室藏的高，可见大粒种子种皮较厚导致其休眠度强的一个原因（图3: B）。

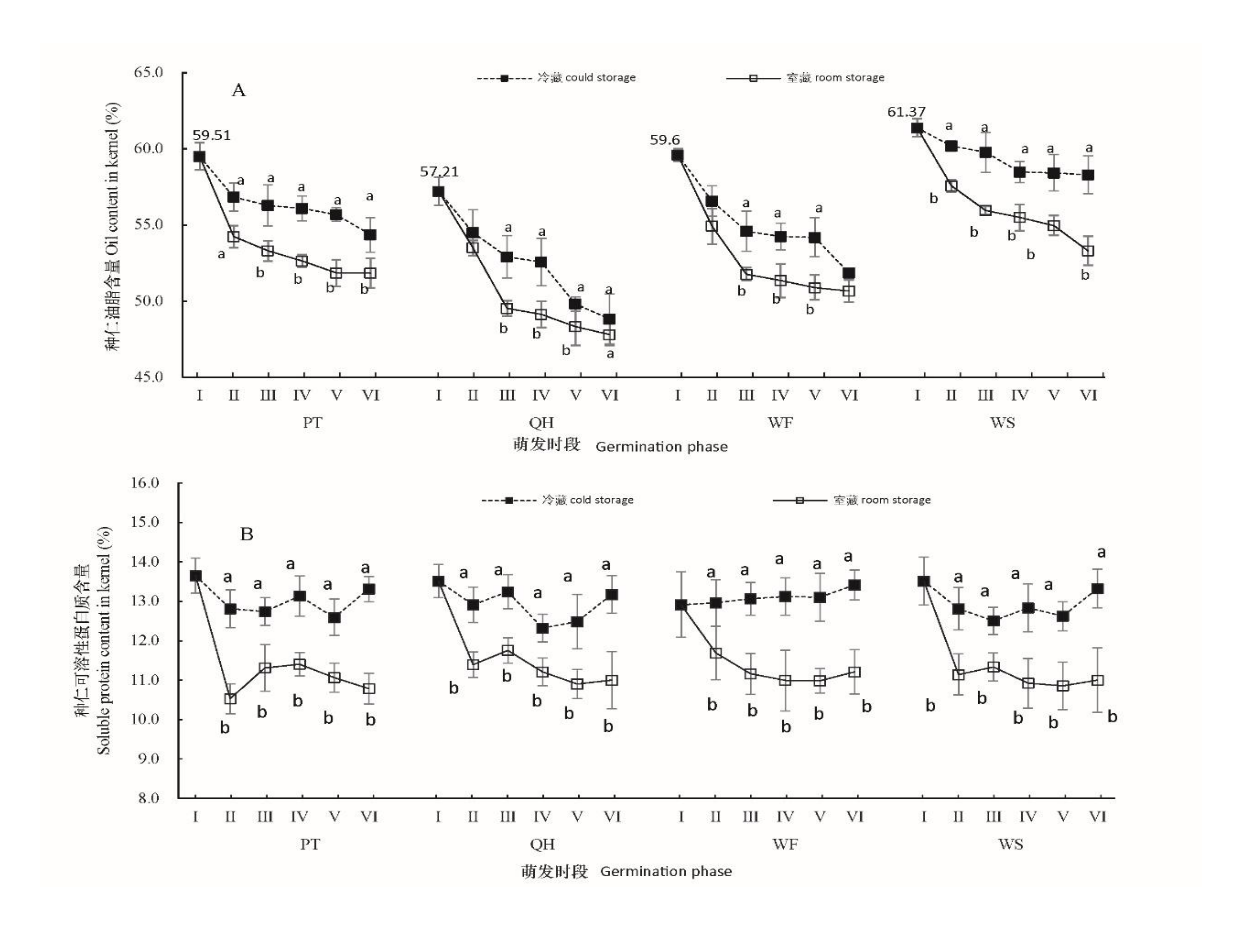


图4 冷藏处理对4个文冠果种子发芽过程中种仁油脂、可溶性蛋白质含量的影响

Fig. 4 Effects of cold storage on contents of oil, soluble protein in four *Xanthoceras sorbifolium* cultivar kernels during storage and germination

储藏前4个品种文冠果种仁的油脂含量存在显著差异，由高到低的顺序是WS >WF>PT>QH，大粒种子WS品种的油脂含量最高，比最低的QH高7.3%（$P < 0.05$）。低温冷藏后4个品种的油脂含量都有所下降，比冷藏前分别下降了4.5%、4.75%、5.1%、2.6%。而室藏后的种子油脂含量下降程度要大于冷藏后的，4个品种分别比储藏前下降了8.9%、6.5%、7.9%、6.2%（$P < 0.05$）。种子萌发期间（0~7 d），2种储藏方式的种子油脂含量出现不同的下降趋势，室藏下的种子在0-1d内下降幅度最大，如QH和WF品种第1 天比0 d分别下降了7.4%和5.7%，后出现呈逐渐下降趋势；而冷藏处理的4个品种分别在0~1 d（QH、WF）、4~7 d（PT、WF）或3~7 d（QH）2个阶段油脂含量出现大幅度下降，如QH品种在 3~7 d间下降了7.6%，WF在4~7 d间下降了4.5%（$P < 0.05$，图 4：A）。

低温冷藏处理后各品种种子可溶性蛋白变化呈现冷藏结束时降低，在萌发时(0~4 d)都有些波动，但总体来看变化不明显，到萌发第7 天时其值都已恢复到储藏前的水平。室储藏结束后的可溶性蛋白质含量比储藏前显著地降低(P<0.05)，在发芽期间变化不大，但各期都显著地低于各自冷藏处理的，如在第7 天时4个品种比冷藏处理的分别下降了19.0%、16.5%、16.4%、17.4% (P < 0.05，图 4：B）。

从图 5：A中可以看出，从储藏前到低温冷藏完毕时种子淀粉含量呈下降趋势，到种子萌发时又开始逐渐增加，萌发第4 天达到高点（QH到萌发第3天）然后开始下降，到第7 天胚根开始突破种皮时达到最低。低温冷藏结束（0 d）时4个品种淀粉含量比储藏前分别下降了19.0%、15.0%、33.0%、17%（P < 0.05），而到萌发第4 天时，淀粉含量比低温冷藏结束时分别提高了70.0%、44.6%（QH第3天）、122.0%、102.0%，尔后出现大幅下降，到第7 天时PT、QH和WF品种种子的淀粉含量都低于0 d的，而WS 品种的淀粉含量仍然高于冷藏0d和第7 天室温下的。室温储藏结束后（II期）各品种的淀粉含量比储藏前没有出现显著的下降，QH和WF品种甚至还出现了显著地增加。在发芽期间，室温处理下的PT品种淀粉含量在0~3 d波动变化，而QH出现显著下降，但在3~7 d内两者淀粉含量又都逐渐上升；WF品种的淀粉含量在0~7 d内都基本保持在0 d时的水平，变化不大；而WS品种在0~4 d内淀粉含量出现逐渐上升趋势，到7 d时出现回落（P < 0.05）。在萌发第7 天时， PT、QH、WF三品种低温冷藏处理的淀粉含量都显著低于室温处理的，分别降低了68.3%、49.2%、32.2%。

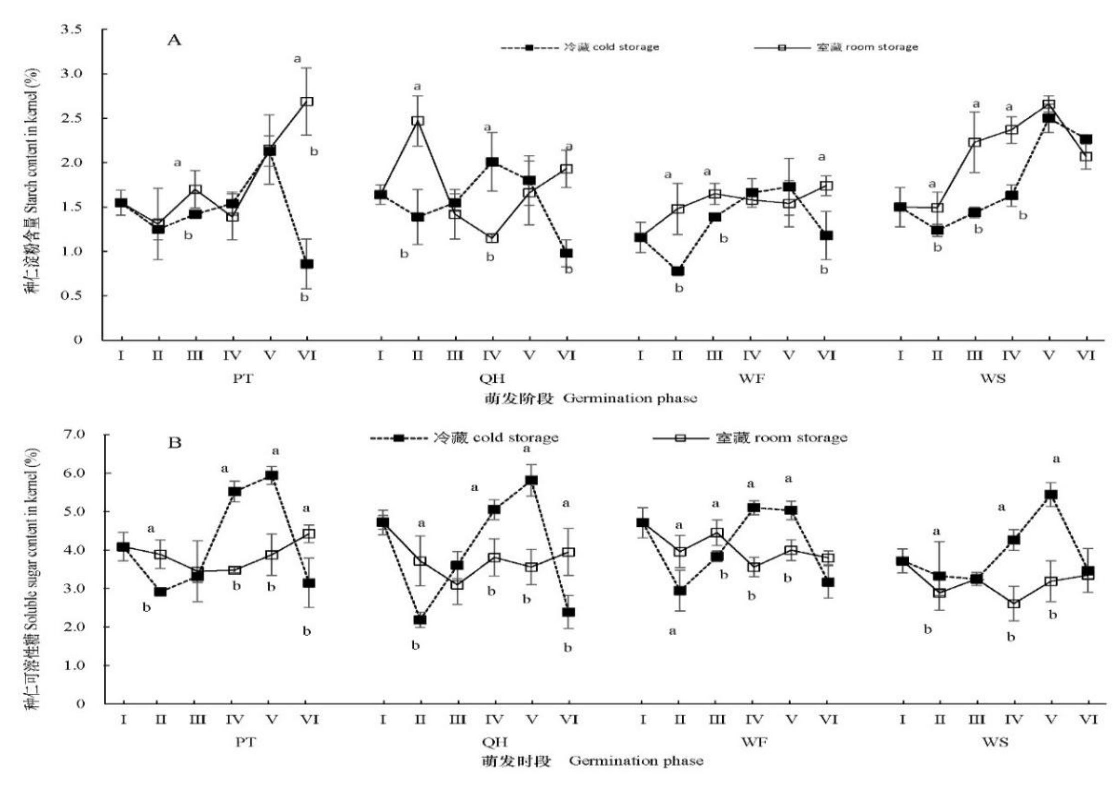


图5 冷藏处理对4个文冠果品种种子发芽过程中种仁淀粉、可溶性糖含量的影响

Fig. 5 Effects of cold storage on contents of starch, soluble sugar in four *Xanthoceras sorbifolium* cultivar kernels during storage and germination

可溶性糖含量的变化幅度大于淀粉的变化，冷藏处理可以显著降低文冠果种子的可溶性糖含量，在冷藏结束时，除WS品种外，其他3个品种比储藏前分别下降了29.0%、54.0%、37.0%；而在种子萌发的0~4 d内可溶性糖含量大幅增加，到第7天时又回落至0 d时的水平，各品种都在萌发第4 天时达到高峰，分别比冷藏结束时提高了103.4%、165.3%、70.5%、63.3%。室藏后各品种种子可溶糖含量下降程度都远高于各自冷藏处理的（PT除外），而在种子萌发期间，除PT在第7天显著高于第1 天外，其他3个品种的可溶糖含量出现波动性化，但都与0 d时没有显著性差异（图：5B）。与室藏相比，冷藏处理的种子可溶性糖含量在第4天时，4个品种分别提高了53.1%、63.2%、25.8%、70.55%， 而在第7天时PT、QH、WF 品种的可溶性糖分别降低了28.7%，39.5%，16.6%（$P<0.05$）。

2.4 冷藏处理对文冠果种子内源激素含量的影响

文冠果种子储藏前（I期）GA的含量WS最高，PT的次之，QH的最少，但经冷藏处理后（II期，0 d）其他三个品种的GA含量都降低，而QH的GA却提高了32.0%。种子萌发第7 天时（VI期），PT和QH种子中的GA含量都比II期都显著地提高，分别增加了84.0%和24.0%；WF和WS品种只增加了5.0%和12.0%（图 6：A）。

ABA含量在种子储藏前四个品种含量由高到低的顺序是 QH＞PT＞WS＞WF，冷藏60 d时PT种子的ABA含量出现下降，QH的稍有增加但不显著（$P>0.05$），而WF、WS分别增加了30.0%和14.0%；种子萌发第7天时4个品种种子的ABA含量都出现大幅降低，分别比II期降低了48.0%、30.0%、24.0%、39.0%（图 6：B）。

储存前（I期）4个品种IAA含量PT的最高，WF的最低，冷藏60 d后，PT和QH品种的IAA含量分别下降了25.0%和19.0%，而WF和WS却分别增加了20.0%和10.0%。到萌发第7 天时，PT和QH种子又出现明显地增加，分别比II期提高了31.0%和21.0%；WS却比0 d时降低了18.0%（图6：C）。

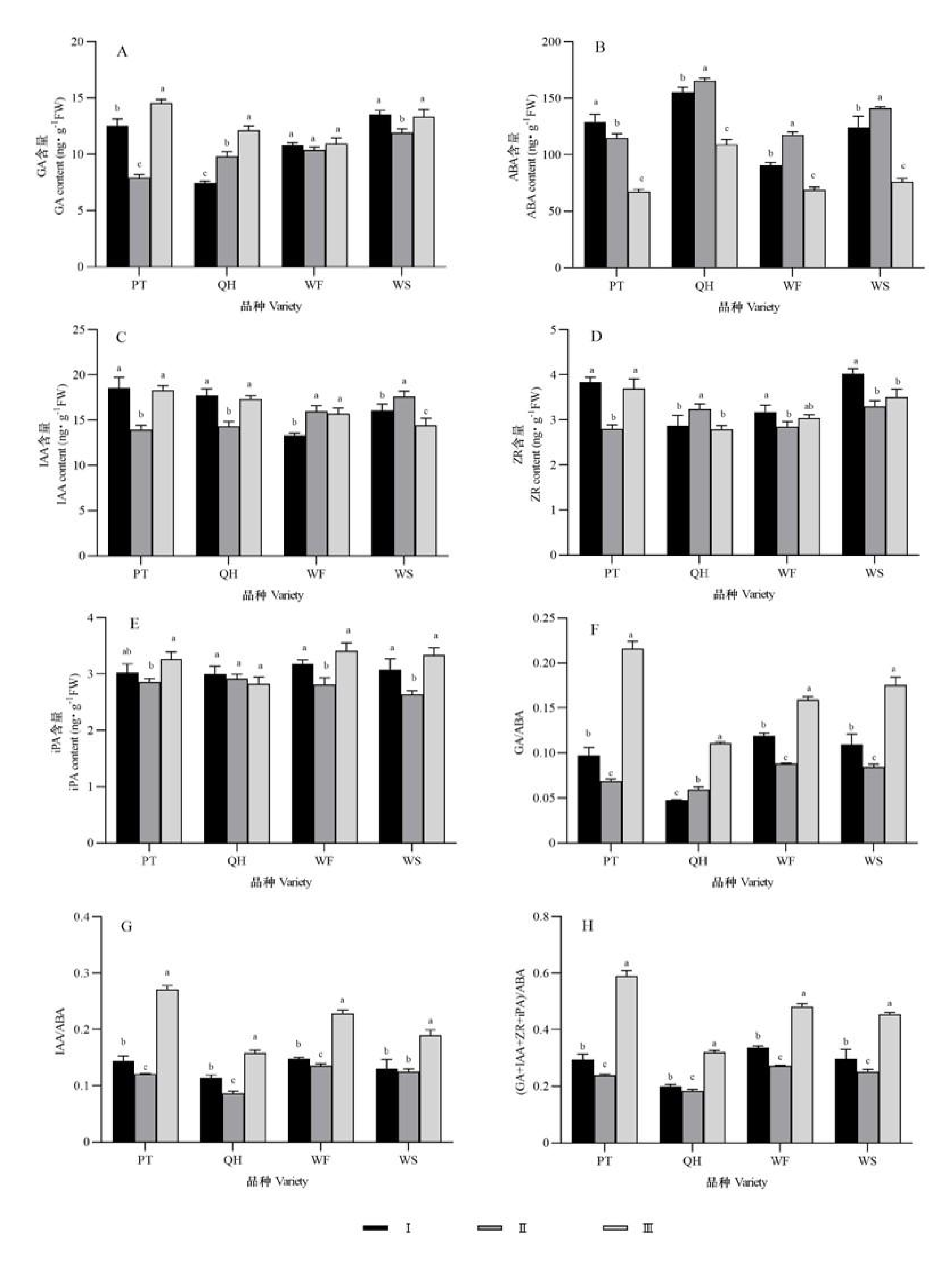
ZR（玉米素核苷）和iPA（异戊烯焦磷酸）的含量在3个阶段中，QH品种呈现先上升后下降的趋势，即在低温冷藏后提高到种子萌发7 d时又下降；其他三个品种都是先下降后上升，也就是冷藏结束后下降，在萌发7 d后又所恢复至收获时相近的水平（图6：D-E）。

从GA/ABA的比值来看，冷藏后QH品种的比值比储藏前（I期）提高了23.5%，而其他三个品种都显著低于储藏前的水平，PT、WF、WS分别比对照降低了29.1%、26.0%、22.4%。在种子萌发第7 天时，GA/ABA比值显著高于前2个时间段，4个品种比值分别比II期的比值提高了213.9%、87.2%、80.3%、81.1%（图 6：F）。

4个品种冷藏结束时IAA/ABA的比值都低于储藏前（I期）的水平，降低值从高到低依次为 15.6%、24.3%、8.0%、3.5%，其中PT、QH、WF都达到显著性水平（$P<0.05$）。而到种子萌发7 d时，4个品种IAA/ABA的比值比II期分别显著地提高了127.1%、83.4%、68.65、52.1%（图 6：G）。

从4个品种种子tHor/ABA(Total hormone, (tHor =IAA+GA+ZR+iPA) 的比值来看，冷藏结束时其比值都显著地降低，分别比I期降低了18.6%、8.6%、6.9%、5.2%（$P<0.05$）；

而到萌发第7 天时该比值又出现上升，极显著高于前2个阶段，特别是跟冷藏结束时相比，4个品种分别提高了146%、75.4%、77.0%、81.1%（图 6：H）。



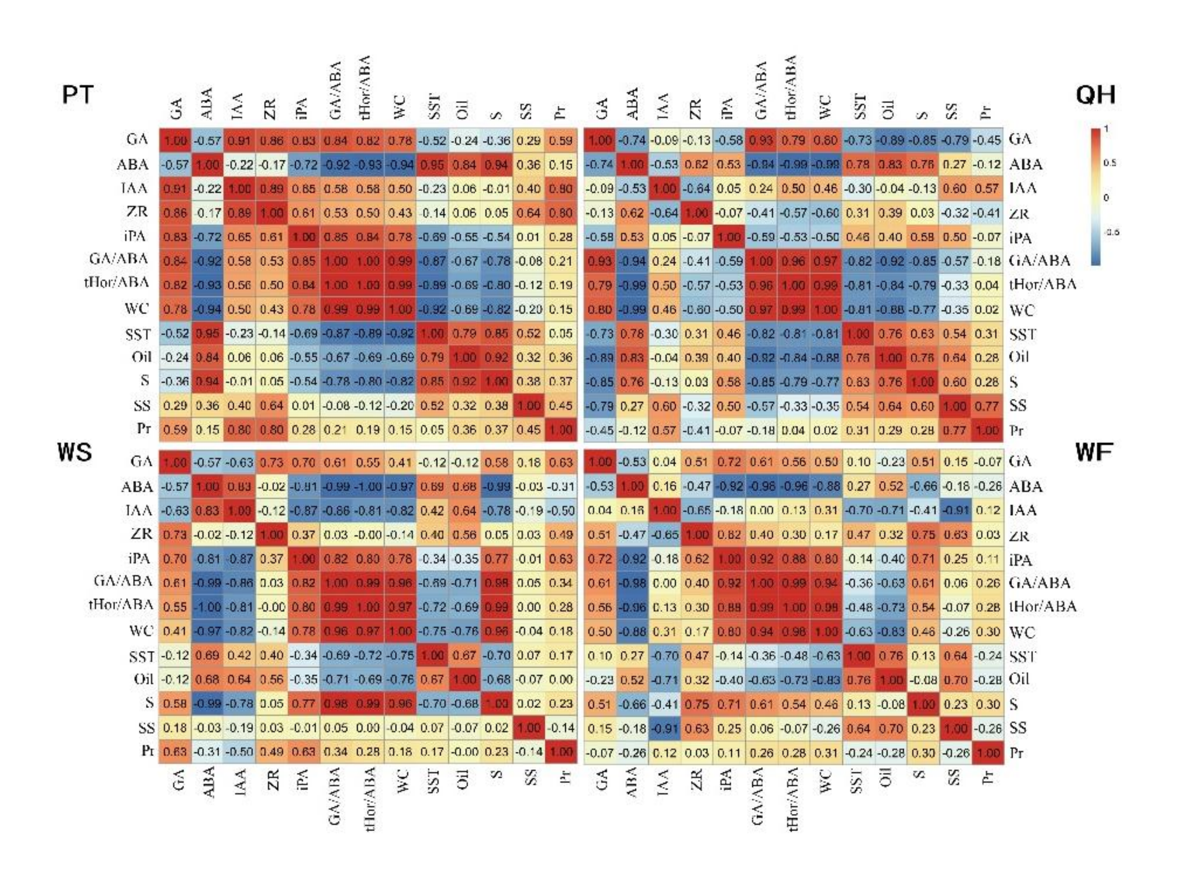
不同小写字母表示每个品种3个时段间的差异显著。

Different small letters indicate significant difference at 0.05 level between per cultivar in different periods.

图6 低温冷藏对4个文冠果品种种子种仁5 种内源激素含量及其比值的影响
Fig. 6 Effects of cold storage on the contents and ratios of five endogenous hormones in four *Xanthoceras sorbifolium* cultivar kernels during storage and germination

2.5 冷藏处理下文冠果种子各指标的相关性

各阶段各指标之间的相关性见图 8，相关性比较密切的指标有：GA、ABA、GA/ABA、tHor/ABA、种仁含水量、种仁油脂、种壳厚度。其中 GA/ABA、tHor/ABA 2 个指标分别与 ABA 和油脂（4 个品种）、种壳厚度（PT、QH、WS）、淀粉（PT、QH）呈显著的负相关；而与 GA 和含水量（4 个品种）、淀粉（WF、WS）呈显著的正相关（$P < 0.01$ 或 $P < 0.05$）。而种壳厚度与 4 个品种的含水量呈显著或极显著的负相关，而与油脂呈显著的正相关，与 PT、QH 的淀粉呈显著正相关（$P < 0.01$ 或 $P < 0.05$）。PT、QH 的油脂与淀粉呈显著的正相关（$P < 0.05$）。



WC. 种仁含水量；**S**. 种仁淀粉；**Oil**. 种仁油脂；**SS**. 种仁可溶性糖；**SST**. 种壳厚度；**Pr**. 种仁可溶性蛋白。
WC. Water content; **S**. Starch; **SS**. Soluble sugar; **SST**. Seed shell thickness; **Pr**. Soluble protein; **tHor /ABA**. (IAA+GA+ZR+iPA)/ABA.

图 7 文冠果冷藏处理和种子发芽过程中油脂等储藏物质与 5 种激素的相关性系数热图
Fig. 7 Heat map of correlation coefficients between reserve substance such as oil and five hormones such as GA/ABA in four *Xanthoceras sorbifolium* cultivar seeds under cold storage

3. 讨论与结论

目前植物种子休眠的原因可分为 5 种类型：生理休眠、形态休眠、形态生理休眠、物理休眠、混合休眠（Baskin et al.，2005）。物理休眠是由种子大小、种皮硬度、种皮厚度影响透水所致（Schutte et al., 2014；Rodrigues- unior et al., 2018）。季节和种子大小决定种子的休眠程度，同一植物大种子较小种子发芽率高（Rubio de et al., 2017; Liyanage ＆ Ooi，2018）。但对于种壳较硬和较厚的文冠果种子来说，种子发芽率与上述研究结果不同，本研究中，小粒种子 PT 和 QH 品种的种子小，发芽率高，而大粒种子 WF 和 WS 发芽率却较低，这可能与文冠果大粒种子的种皮厚度和硬度有关，WF 和 WS 种子用钳子难以夹开，种皮厚且硬，是大粒种子发芽率低的原因之一，即大粒种子物理休眠强于小粒种子。

种子生理休眠是由于种子存在发芽抑制物或者存在生理后熟，抑制胚根萌发所致（Baskin et al.，2014）。本研究中 4 个品种文冠果种子的油脂含量在 57%~62%之间，说明生理后熟可能是导致其种子生理休眠的另一原因。经低温储藏后 4 个品种文冠果种仁中油脂和蛋白质、淀粉和可溶性糖含量均出现了下降，但前两者下降程度都低于室藏的，而淀粉和可溶性糖含量下降程度却高于室温的，这说明低温储藏能够降低种子的代谢强度，减少种子储藏物的消耗和降解（Da Silva et al., 2018)。这与室温下储藏 6 个月后的 *Libidibia ferrea* 种子导致葡萄糖和氨基酸含量的下降、而这些物质在−18℃低温下变化不大的结果一致（Bragante et al., 2018）。

种子由休眠转为萌发时体内的储藏物如淀粉、蛋白、油脂会进行利用总动员（Vondrakova et al., 2020）。研究表明油松种子萌发过程中蛋白质和粗脂肪动员较快，是首先利用的贮藏物质（陈丽培和沈永宝，2010）。花生种子的油脂在种子萌发阶段含量也快速下降（王允等, 2017）。本研究中，文冠果种子在萌发过程中也是油脂逐渐下降，可溶性糖在种子萌发的 3~4d 内急剧增加，而在 1~4 d 内淀 粉含量也出现了增加，说明文冠果首先利用油脂的降解，逐渐转变为淀粉和可溶性糖，供胚根、胚芽伸长，这跟金香花（2015）在文冠果种子萌发过程中油脂降低的结果是一致的。这些内含物的变化在细叶楠、紫楠休眠种子萌发中也有同样表现（张心艺等, 2022; 柳苗等, 2023)。

种子萌发是一个吸水诱导的种子呼吸和代谢逐渐增强的过程。本研究中，低温储藏降低了种子内含物的消耗，同时低温也改变了文冠果种子的种皮特性。低温冷藏后各品种的种皮厚度高于室温储藏的种子，这种差异使种子在湿沙萌发时，种子吸水量在 0~3 d 内低于室温下的种子，而在 4-7 d 间吸水超过了室温的，这可能是低温冷藏使种壳厚度达到某一特定状态，改变其机械强度和透水性，使种子在湿沙下吸水时有一个慢慢回温的过程，导致初期吸水速度低于室温下，这样不至于使种仁因过度吸胀而受到物理伤害。另外冷藏可能增强了种子的抗氧化性能，而室藏的种子会导致活性氧积累、种子劣变和活力丧失，如室藏的种子吸胀后，H_2O_2 含量会出现一个峰值（Bicalho et al., 2016)，说明此时会发生氧化应激，对种仁产生一定的胁迫作用，这对本研究中的 PT 和 QH 小粒种子来说更为重要。这些结果与花生储藏 1 年后发生裂变、柚木种子热水浸种处理初始吸水率高于室温种子的结果一致（张俊等，2018；凌莉芳等，2018），与岩黄连种子在混沙保湿冷藏下能显著提高种子萌发率的结果相吻合（潘燕林等，2022）。冷藏后种子吸水过程生理及种子活性氧代谢变化还需进一步研究。

种子的休眠与萌发主要由GA/ABA比例的高低决定，高比值有利于萌发，而低比值有利于休眠（Zhang et al.，2022)。适当的低温冷藏可促进ABA、油脂等抑制类物质的降解，促进生长激素GA的合成，完成后熟，促进种子萌发（Wu & Shen，2021；Scepanovic et al.，2022）。在本研究中，冷藏结束后，PT品种的种子ABA出现显著下降，且QH品种的GA含量和GA/ABA比值都高于储藏前的水平，说明文冠果品种种子本身存在成熟度、休眠程度的差异。QH和PT小粒种子成熟度高，经冷藏后能够使ABA快速下降（PT），或者通过增加GA的含量(QH)，使种子逐渐解除休眠，这与银杏和南京椴（Jia et al.，2020；Wu & Shen，2021）等种子解除过程中的变化一致。而WF和WS由于种子体积大、内含物丰富，经低温冷藏后ABA含量仍未出现下降，GA/ABA比值较小粒种子增加幅度小，因而他们冷藏后发芽的效果就没有小种子明显。本研究还发现湿沙萌发7d 时（胚根突破种皮）种子中的GA/ABA、tHor/ABA比值都大幅提升，说明冷藏+湿沙更有利于种子的萌发。

综上所述，文冠果种子的休眠为综合休眠，主要有 3 方面造成：（1）种子体积大；（2）种壳厚、硬度大；（3）种子存在生理后熟。4 个品种的文冠果种子可以分为两类：小粒种子‘奇红’和‘普通’品种发芽率高，大粒种子‘沃丰’和‘沃石’发芽率低。-20 ℃的低温冷藏 60 d 能够显著提高小粒种子的发芽率，种子发芽时间提前，‘奇红’、‘普通’发芽率分别达到 58.3%和 48.3%。大粒种子‘沃石’低温冷藏的时间需要延长 150 d 时效果较好，发芽率可达到 38.7%。小粒种子由于本身含油脂低、种皮薄，低温冷藏可降低 ABA 含量或提高 GA/ABA 比值，进而促进油脂降解、种壳变薄解除种子的休眠。而大粒种子 WS 油脂含量高、种皮厚，低温冷藏能够部分解除其休眠，但在冷藏后油脂含量、种皮厚度，ABA 含量仍然较高，因而发芽率较低。低温冷藏+湿沙萌发是一种快速和简便的促进文冠果种子萌发的方法。

参考文献：

BASKIN JM, BASKIN CC, 2014. What kind of seed dormancy might palms have? [J]. Seed Sci Res, 24 (1) : 17−22.

BASKIN CC, BASKIN JM, 2005. Underdeveloped embryos in dwarf seeds and implications for assignment to dormancy class [J]. Seed Sci Res, 15 (4) : 357−360.

BICALHO EM, MOTOIKE SY, BORGES EEDE et al., 2016. Enzyme activity and reserve mobilization during Macaw palm (*Acrocomia aculeata*) seed germination [J]. Acta Bot Bras, 30 (3) : 437–444.

BRAGANTE RB, HELL AF, SILVA JPN, et al., 2018. Physiological and metabolic responses of immature and mature seeds of *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L. P. Queiroz) under contrasting storage temperatures [J]. Braz J Bot, 41 (1): 43–55.

CHEN LP, SHEN YB, 2010. Material metabolism of *Pinus tabulaeformis* seeds during initial germinating stage [J]. J Beijing For Univ, 32(2): 69-73.[陈丽培，沈永宝，2010. 油松种子萌发初始阶段物质代谢的研究[J]. 北京林业大学学报，32 (2)：69−73.]

GRAEBER K, NAKABAYASHI K, MIATTON E, et al., 2012. Molecular mechanisms of seed dormancy [J]. Plant Cell Environ, 35 (10) : 1769−1786.

Da Silva TL, Gomes HT, Scherwinski-Pereira JE, et al., 2017. Designing ex-situ conservation strategies for seeds storage of *Piper aduncum* and *P. hispidinervum* through cryopreservation and low-temperature

techniques [J]. J Forest Res, 22 (6): 380−385.
JIA Z, ZHAO B, IU S, et al., 2020. Embryo transcriptome and miRNA analyses reveal the regulatory network of seed dormancy in *Ginkgo biloba* [J]. Tree Physiol, 41 (4): 1247−1263.
JIN XH, LI X, LI YD, et al., 2015. The research on transformations of main inclusions and changes of related enzyme activity during seed germination of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge [J]. Agric Sci J Yanbian Univ, 37 (2): 102−106. [金香花，李旭，李永德，等，2015. 文冠果种子萌发过程中主要内含物的转化及相关酶活变化 [J]. 延边大学农学学报，37 (2)：102−106.]
LING LF, LI LF, YANG WJ, et al., 2018. Preliminary analysis of the quality and water absorption characteristic of *Tectona grandis* seeds [J]. Seed, 37(3):122−125. [凌莉芳，李莲芳，杨文君，等，2018. 柚木种子品质及其吸水特征初步分析[J]. 种子，37(3)：122−125.]
LIU CX, CHEN ZX, YANG AJ, et al., 2020. A study on seeds dormancy relief based on stratification on *Xanthoceras soebifolia* Bunge[J]. J Weifang Univ, 20 (6): 1−6. [刘春香，陈忠秀，杨爱君，等，2020. 基于层积的文冠果种子破除休眠研究[J]. 潍坊学院学报，20(6)：1−6.]
LIU M, GAO HD, GAO Y, et al., 2023. Study on the physiological and biochemical changes of *Phoebe sheareri* seed during its dormancy breaking [J]. J Nanjing For Univ (Nat Sci Ed) , 47 (2):9-17.[柳苗，高捍东，高燕，等，2023. 休眠解除过程中紫楠种子生理生化特征的变化[J]. 南京林业大学学报（自然科学版），47（2）：9−17.
LIYANAGE GS, OOI MKJ, 2018. Seed size-mediated dormancy thresholds: a case for the selective pressure of fire on physically dormant species [J]. Biol J Linn Soc, 123 (1): 135−43.
PAN Y L, GUO LF, WANG XG, et al., 2022. Study on seed germination characteristics of *Corydalis saxicola* [J]. Guihaia, 2022-11-19. [潘燕林，郭伦发，王新桂，等，2022. 岩黄连种子萌发特性研究[J]. 广西植物，2022-11-19.]
PEI YX, CAO J, DU KB, et al., 2020. Effects of storage temperature on seed storability of *Liquidambar formosana*[J]. For Sci Res, 33 (5): 55−60. [裴云霞，曹健，杜克兵，等，2020. 贮藏温度对枫香种子耐贮性的影响[J]. 林业科学研究，33（5）：55−60.]
RORDRIGUES-JUNIOR AG. Caroline MA, BASKIN CC, et al., 2018. Why large seeds with physical dormancy become nondormant earlier than small ones [J]. PLOS ONE, 13 (8): e0202038.
SCEPANOVIC M, KOSCAK L, PISMAROVIC L, SOSTARCIC V, 2022. Stimulation of germination of freshly collected and cold-stored seeds of *Ambrosia artemisiifolia* L.[J]. Plants, 11 (14) : 1888.
SCHUTTE BJ, DAVIS AS, PEINADO SAJ et al., 2014. Seed-coat thickness data clarify seed size±seed bank persistence trade-offs in *Abutilon theophrasti* (Malvaceae)[J]. Seed Sci Res, 24 (2) : 119−131.
SONG MH, LIANG BY, WANG RU et al., 2021. Effects of different treatments on seedling emergence rate and seedling growth of *Xanthoceras sorbifolium* Bunge [J]. J W Chin For Sci, 50 (4): 41−45, 59. [宋美华，梁宝银，王茹，等，2021. 不同处理方法对文冠果大田播种出苗率和苗期生长的影响[J]. 西部林业科学，50（4）：41−45, 59.]
RUBIO de C, RAFAEL W, CHARLES G, et al., 2017. Global biogeography of seed dormancy is determined by seasonality and seed size: a case study in the legumes [J]. New Phytol, 214 (4): 1527−1536.
VONDRAKOVA Z, PESEK B, MALBECK J, et al., 2020. Dormancy breaking in *Fagus sylvatica* seeds is linked to formation of abscisic acid‐ glucosyl ester [J]. New Forest, 51 (4): 671–688.
WANG, X, ZHENG, YQ, SU SC, et al., 2019. Discovery and profiling of microRNAs at the critical period of sex differentiation in *Xanthoceras sorbifolium* Bunge [J]. Forests, 10 (12): 1141.

WANG ZL, HUI M, SHI XQ, et al., 2022. Characteristics of the seed germination and seedlings of six grape varieties (*V. vinifera*) [J]. Plants, 11(4): 479.

WANG S G, 2017. Experiment course of plant physiology[M]. Beijing: Science Press. [王三根，2017. 植物生理学实验教程[M]. 北京：科学出版社.]

WANG Y, LIU T, HE XY, et al., 2017. Oil bodies microstructure observation of peanut seeds at different developmental stages [J]. J Henan Agric Univ, 51(6):775−780. [王允，刘婷，和小燕，等，2017.花生种子在不同发育时期油体的显微结构分析[J]. 河南农业大学学报，51（6）：775−780.]

WU S R, CHEN W F, ZHOU X, 1988. Enzyme linked immunosorbent assay for endogenous plant hormones. Plant physiol commun, (5): 53−57. [吴颂如，陈婉芬，周燮，1988. 酶联免疫法 (ELISA) 测定内源植物激素[J]. 植物生理学通讯，（5）：53−57.]

WU Y, SHEN YB, 2021. Sulfuric acid and gibberellic acid (GA_3) treatment combined with exposure to cold temperature modulates seed proteins during breaking of dormancy to germination in *Tilia miqueliana* [J]. Protein J, 40 (6): 940−954.

XU HM, GUO L, MA RJ. 2022. Effects of cold storage on seed germination and seedling growth of peach rootstock cultivar Nemaguard [J]. Jiangsu J Agric Sci, 38 (1): 200−206. [徐慧敏，郭磊，马瑞娟，等，2022. 低温冷藏对桃砧木 Nemaguard 种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 江苏农业学报，38（1）：200−206.]

YU HY, FAN SQ, BI QX, et al., 2017. Seed morphology, oil content and fatty acid composition variability assessment in yellowhorn (*Xanthoceras sorbifolium* Bunge) germplasm for optimum biodiesel production [J]. Ind Crop Prod, 97(3): 425−430.

ZHANG J, LIU J, ZANG XW, et al., 2018. Research of seed germination ability and physiological change of peanut under different storage method[J]. J Agric Sci Technol, 20 (6) :19−27. [张俊，刘娟，臧秀旺，等，2018. 不同贮藏方式下花生种子萌发能力及生理变化研究[J]. 中国农业科技导报，20（6）：19−27.]

ZHANG H, QIU Y, JI Y, et al., 2022. Melatonin promotes seed germination via regulation of ABA signaling under low temperature stress in cucumber[J]. J Plant Growth Regul, 42 (6) : 2232-2245.

ZHANG Q, SU BL, JIN H, et al., 2014. Fsst germination and seedling of *Xanthoceras sorbifolia*[J]. J NE For Univ, 42 (9): 161−163. [张茜，苏宝玲，金昊，等，2014. 文冠果快速催芽育苗[J]. 东北林业大学学报，42（9）：161−163.]

ZHANG XY, YAN X, LI TH, et al., 2022. Physiological responses of seed dormancy and germination to cold stratification in Phoebe hui Cheng ex Yang [J]. Plant Sci J, 40 (3):398-407. [张心艺，闫旭，李铁华，等，2022. 细叶楠种子休眠与萌发对低温层积的生理响应[J]. 植物科学学报，40（3）：398−407.]

ZHU F, AOY, HIRST PM, et al., 2022. Suitable pollen source for the improvement of fruit and seed traits in *Xanthoceras sorbifolium*[J]. Ind Crop Prod, 182 (8): 114858.